

## ОСОБЕННОСТИ ТЕМПЕРАТУРНОЙ ЗАВИСИМОСТИ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ КОММУНИКАЦИИ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ *LYMNAEA*

Temperature dependence of synaptic transmission between preliminary sensory neurons and body-wall innervate neurons within mollusc *Lymnaea stagnalis* nervous system was studied. We find that conductance was disrupted during temperature elevation. The data obtained underlie temperature dependent changes of mollusc's defensive behaviour.

Температура является одним из основных абиогенных факторов окружающей среды. Ее действию в наибольшей степени подвержены эктотермные животные, что позволяет использовать их в качестве высокочувствительных моделей для изучения влияния различных температур на организм, в частности на функционирование нервной системы. Это тем более справедливо, если принять во внимание факт удивительного единообразия нервных процессов у различных животных, что было неоднократно доказано работами пионеров этого научного направления - Кертиса и Коула, Ходжкина и Хаксли, Экклса и др. [1, 2].

В конце 1990-х - начале 2000-х гг. широкое развитие получило представление о генерализованном действии на организм целого ряда химических и физических начал - феномен *volume transmission*. Несомненно, что к ним относятся и температурные влияния. Сенсорные нейронные сети нервной системы моллюска *Lymnaea stagnalis* не относятся к числу хорошо изученных, однако целый ряд их составляющих, а также тесно связанных с ними элементов оборонительной сети идентифицирован. Результаты наших предыдущих работ показали увеличение выраженности оборонительного поведения *Lymnaea* при пониженных температурах [3], а также возможность модуляции путей получения аверсивной информации при изменении температуры [4]. Тем не менее температурная зависимость процессов межклеточной коммуникации, обеспечивающих интеграцию нейронных элементов в единую сеть, способную выполнять определенную физиологическую функцию, не была изучена. Данному вопросу и посвящена настоящая работа.

### Материал и методика

Исследования проводились на препаратах изолированной ЦНС представителя отряда Basommatophora - *Lymnaea stagnalis* (L.). Подробное описание условий содержания животных, методики проведения электрофизиологических экспериментов, системы термостатирования и других приведено в работе [4]. Анализировалась температурная зависимость синаптической передачи между предполагаемыми сенсорными нейронами (RPaD1 и прилежащими ей клетками С-кластера париетального ганглия) и клетками F-группы висцерального ганглия. В работе использована классификация, предложенная Бенжамином и Уинловом [5], карты расположения исследованных нейронов приводятся там же.

### Результаты и их обсуждение

Нейроны F-группы висцерального ганглия иннервируют стенку тела моллюска и участвуют в координированных движениях раковины. Выраженность оборонительного поведения определяется степенью втянутости (выдвинутости) животного в (из) раковину(-ы): чем больше прикрыто тело раковинной, тем сильнее защитная доминанта особи.

При 15 °С нейроны F-группы висцерального ганглия, как правило, спонтанно активны - частота генерации потенциала действия составляет  $0,56 \pm 0,08$  Гц ( $n=6$ ), а величина мембранного потенциала -  $69,6 \pm 2,11$  мВ ( $n=6$ ). Понижение температуры на 10 °С приводит к подавлению регулярной спонтанной активности и деполяризации клеток, повышение, напротив, - к усилению импульсации в 1,9 раза на фоне выраженного снижения мембранного потенциала (рис. 1).

Нами установлено наличие синаптической связи между одной из клеток С-группы (рядом с нейроном RPaD1, левее и каудальнее) париетального ганглия и нейроном F-группы (рядом с нейроном VD1, левее и ростральнее). Синаптической связи между другими клетками С-группы, сенсорным нейроном RPaD1 и клетками F-группы выявлено не было.

Деполаризующий импульс тока (2 нА, 3-5 с), приложенный к указанной клетке, вызывает в ней генерацию серии потенциалов действия и после небольшой (менее 0,3 с) задержки - пачку импульсов в отмеченном нейроне F-группы (рис. 2 а). Снижение температуры на 10 °С не влечет качественных изменений в характере межклеточного взаимодействия. При этом следует отметить увеличение временной задержки до 1 с возникновения потенциалов действия в нейроне F-группы в ответ на стимуляцию клетки С-кластера, а также снижение при 4-6 °С количества импульсов в пачке (рис. 2 б) по сравнению с контрольным. Повышение же температуры на такую же величину приводит к выраженной перестройке работы исследованного соединения. Так, деполаризующие толчки тока, вызывая серию импульсов в нейроне С-группы, не приводят к генерации потенциалов действия в клетке F-группы (рис. 2 в). На мембране данного нейрона регистрируются небольшие по амплитуде (около 1,5 мВ) возбуждающие постсинаптические потенциалы, однако их величина была недостаточной для возникновения потенциалов действия. Временная задержка при этом составляла 0,3 с. Нормализация температурных условий приводит к полному восстановлению характера межклеточной коммуникации между исследованными структурами.

Изученный межнейронный контакт, по-видимому, имеет в своей основе химическую природу. Об этом свидетельствует наличие временной задержки возникновения потенциалов действия в нейроне F-группы, возрастающей при понижении температуры. Исследованная клетка С-кластера, вероятно, относится к сенсорным нейронам. В

пользу подобного предположения говорит ее расположение рядом с RPaD1, роль которого в обработке аверсивной информации можно считать доказанной [6]. С большой долей уверенности можно предположить пептидергическую природу данного контакта. Подтверждением этого служит белый цвет нейрона С-группы (что свойственно клеткам нервной системы *Lytnaеа*, использующим нейропептиды в качестве нейромедиатора), отсутствие его на картах, показывающих распределение дофамин- [7] и серотонинергических [8] нейронов в пределах нервной системы *Lytnaеа*. Клетки F-группы содержат FMRF-амид - нейромедиатор, характерный для подавляющего большинства нейронов, реагирующих на различные внешние стимулы у *Lytnaеа* [9], что подтверждает их интегрированность в единую сенсорную сеть.

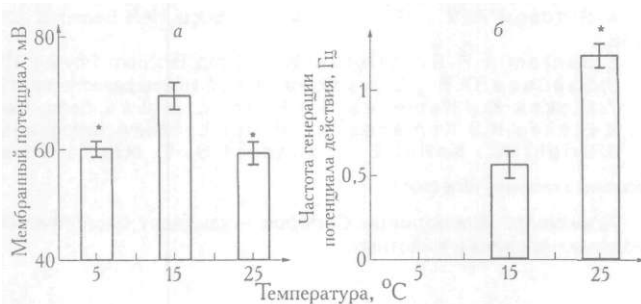


Рис. 1. Мембранный потенциал (а) и частота генерации потенциала действия (б) нейронов F-группы висцерального ганглия при разных температурах.

\* - достоверно ( $P < 0,05$ ) по сравнению со значением при 15 °С

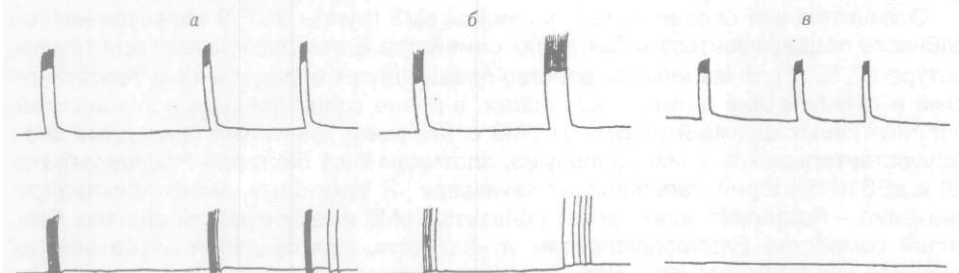


Рис. 2. Влияние температуры на синаптическую передачу между нейроном С-кластера париетального ганглия и клеткой F-группы висцерального ганглия нервной системы *Lytnaеа*:

а - 4-6, б - 14-16, в - 24-26 °С. Калибровка: 115|10с

По всей видимости, существует возможность тормозного, обусловленного повышением температуры, контроля нейронов, иннервирующих стенку тела со

стороны сенсорного (?) звена сети. Напомним, что при повышении температуры оборонительная доминанта особи понижается. Отмеченная особенность не является жестко предопределенной, так как только одна клетка из пяти рядом расположенных исследованных нейронов F-группы реагировала на раздражение клетки C-кластера. Заметим, что наблюдаемое усиление спайковой активности ряда нейронов F-группы может свидетельствовать об их вовлеченности в реализацию поведенческих программ не оборонительного характера, но связанных с активными перемещениями раковины относительно тела животного, например дыхательной, локомоторной. Видимо, должны существовать и другие сенсорные входы на нейроны F-группы, активация которых позволяет животному должным образом реагировать на установление новых равновесий в окружающей среде.

Таким образом, в основе интеграции клеток в единую нейронную сеть у *Lymanea* при действии повышенных (пониженных) температур лежит перестройка процессов межклеточной коммуникации.

1. Кэндел Э. Клеточные основы поведения. М., 1980.
2. Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных. Приспособление и среда. М., 1982.
3. Сидоров А.В. // Журн. высш. нерв. деятельности им. И.П. Павлова. 2003. Т. 53. С. 521.
4. Sidorov A.V., Gourine V. N. // Весті НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. 2002. № 3. С. 12.
5. Benjamin P.R., Winlow W. // Сотр. Biochem. Physiol. 1981. Vol. 70A. P. 293.
6. Зайцева О.В., Шувалова Н. Е. // Нейрофизиология. 1988. Т. 20. С. 785.
7. Elekes K., Kemenes G., Hiripi L. et al. // J. Сотр. Neurol. 1991. Vol. 307. P. 214.
8. Elekes K., Kemenes G., Hiripi L. // Symp. Biologica Hungarica. 1988. Vol. 36. P. 703.
9. Bright K., Kellet E., Saunders S. E. et al. // J. Neurosci. 1993. Vol. 13. P. 2719.

Поступила в редакцию 10.09.2004.

*Александр Викторович Сидоров* - кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных.

УДК 579.8.841.11:252.5

М.А. ТИТОК

## СВОЙСТВО ТЕМПЕРАТУРНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ПЛАЗМИДЫ pMT2 (IncP-9)

We have isolated and characterized a temperature resistant variant of the pMT2 plasmid (IncP-9). The C→A transversion stabilizing the pMT2 plasmid is located within the region of the *rep* gene promoter. This point mutation leads to increased expression of the Rep protein which could be registered via activity of the *rep* gene promoter. We suggest, that temperature instability of the pMT2 plasmid is linked to replication initiation and depends on the cellular concentration of the Rep protein.

Плазмиды группы Р-9 несовместимости характеризуются большим разнообразием фенотипических маркеров и представлены плазмидами антибиотикорезистентности и биodeградации, способными передаваться в клетки различных грамотрицательных бактерий [1, 2].

Отличительной особенностью плазмиды pM3 группы IncP-9 является неспособность поддерживаться в бактериях семейства *Enterobacteriaceae* при температуре 37 °C [2]. Выявленное свойство представляет определенный теоретический и практический интерес: во-первых, в плане сопоставления особенностей репликативных функций плазмиды pM3 с таковыми известных природных термочувствительных плазмид, например, плазмиды Rts1 бактерий *Proteus vulgaris* [3] и pPS10 бактерий *Pseudomonas savastanoi* [4]; во-вторых, имеет прикладное значение - позволяет использовать плазмиду pM3 в генетическом анализе бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, в частности, для создания на ее основе векторов для транспозонного мутагенеза и хромосоммобилизующих факторов [5].

Целью настоящей работы явилось получение и характеристика терморезистентного варианта плазмиды pMT2 группы IncP-9.

### Материал и методика

В работе использовались штаммы и плазмиды, характеристика которых представлена в табл.1.